
BIOCOMBUSTIBLES Y BIOTECNOLOGÍA: LA YUCA (*Manihot esculenta*) COMO MODELO DE INVESTIGACIÓN.

Biofuels and Biotechnology: Cassava (*Manihot esculenta*) as a Research Model.

SIMÓN CORTÉS SIERRA¹, Biólogo; PAUL CHAVARRIAGA², M.Sc.;
CAMILO LÓPEZ¹, Ph. D.

¹ Laboratorio de Fitopatología Molecular, Departamento de Biología,
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá,
AA 14490, Bogotá D.C., Colombia. celopezc@unal.edu.co

² Biotechnology Research Unit. Centro Internacional de Agricultura
Tropical. Cali, Colombia. p.chavarriaga@cgiar.org

Presentado 23 de febrero de 2008, aceptado 28 de junio de 2009, correcciones 1 de diciembre de 2009.

RESUMEN

Los combustibles obtenidos a partir de materia vegetal, como etanol y biodiesel, están tomando importancia en la dinámica energética mundial gracias principalmente a que son más económicos y menos contaminantes del medio ambiente que los combustibles fósiles. El mercado de biocombustibles ha producido un incremento en las áreas de cultivo tanto de plantas regularmente usadas como materia prima para su obtención como de aquellas con potencial de ser nuevas fuentes de producción, al igual que ha impulsado la investigación básica orientada hacia el incremento en calidad y producción de diferentes cultivos. Las plantas que almacenan cantidades importantes de almidón, azúcares simples o aceites son el blanco principal para la producción de biocombustibles, aunque nuevas tecnologías están permitiendo la utilización de celulosa como materia prima. El cultivo de yuca (*Manihot esculenta*) está ampliamente distribuido en toda la zona tropical y es la base alimenticia de cerca del 10% de la población mundial. El alto contenido de almidón en las raíces almacenadoras de la yuca hace de este cultivo una opción para la obtención de etanol. El uso de técnicas de mejoramiento no convencional de variedades de yuca permitirá la generación de plantas más aptas para la industria de biocombustibles. En este manuscrito se revisa el estado actual de los biocombustibles a nivel mundial y nacional, y se comentan los beneficios y retos a afrontar en cuanto a las implicaciones respecto al medio ambiente y la alimentación humana. Finalmente se discute el potencial de la yuca como fuente eficiente de materia prima para la obtención de biocombustibles en Colombia.

Palabras clave: yuca, biocombustibles, almidón, etanol, biotecnología.

ABSTRACT

Fuels such as ethanol and biodiesel, obtained from plants and their constituents, have recently received the world's attention as a true alternative to the global energy supply,

mainly because they are cheaper and less contaminant of the environment than the currently used, non-renewable fossil fuels. Due to the pushing biofuel market, the world is currently experiencing an increase of agricultural land devoted to grow crops used to obtain them, like maize and sugar cane, as well as crops that have the potential to become new sources of biofuels. Similarly, this emerging market is boosting the basic research oriented towards obtaining better quality and yield in these crops. Plants that store high quantities of starch, simple sugars or oils, are the target of the biofuel industry, although the newest technologies use also cellulose as raw material to produce fuels. Cassava (*Manihot esculenta*) is widely grown in the tropics and constitutes a staple food for approximately 10% of the world population. The high starch content of its storage roots, together with the use of conventional and non-conventional breeding turn this crop into an option to obtain better adapted varieties for ethanol production. This manuscript reviews the current state of biofuels worldwide and at the national level, and discusses the benefits and challenges faced in terms of effect on the environment and the human food chain. Finally, it discusses the potential of cassava as a source of raw material for obtaining biofuels in Colombia.

Key words: Cassava, Biofuels, Starch, Ethanol, Biotechnology.

INTRODUCCIÓN

El modelo energético actual, basado en el consumo de combustibles fósiles, genera diversos problemas a causa del carácter no renovable de éstos, grado de contaminación del medio ambiente, liberación de gases que contribuyen al calentamiento global, además de frecuentes conflictos en el ámbito geopolítico entre países productores y consumidores. La producción de biocombustibles representa una alternativa energética viable frente a la utilización de energía proveniente de combustible fósil. Los biocombustibles son los combustibles obtenidos a partir de carbohidratos provenientes de material vegetal, particularmente productos ricos en sacarosa, almidón o celulosa para la obtención de bioetanol, y productos ricos en aceites para el caso del biodiesel. Se han implementado diferentes estrategias a nivel mundial para reemplazar o utilizar de manera conjunta los combustibles fósiles y los biocombustibles. En Estados Unidos existe un amplio mercado para el etanol producido a partir de almidón de maíz, mientras que en Brasil el etanol obtenido a partir de caña de azúcar es ampliamente utilizado (Somerville, 2007). Planes de utilización de biocombustibles a gran escala, con incrementos en su uso de entre el 8% en Europa, 10% en China, 22% en Brasil y la meta de Estados Unidos de triplicar su producción en diez años, están siendo llevados a cabo (Balat y Balat, 2009). La producción de biocombustibles puede contribuir a generar desarrollo en países pobres y servir como alternativa a cultivos ilícitos. Colombia tiene características propicias para la producción de biocombustibles: su ubicación tropical, cultura agrícola y disponibilidad de tierras aptas para determinados cultivos hacen que esta práctica sea viable. Sumado a lo anterior, el gobierno ha promovido una serie de estímulos legales que propician el desarrollo de la industria de biocombustibles, tales como exenciones tributarias, creación de zonas francas para su cultivo, y generación de planes de crédito e inversión. Por otra parte, tratados comerciales entre diversos países

promueven la producción y exportación de biocombustibles. Dentro de los cultivos que pueden ser utilizados como fuentes de biocombustibles, el de yuca presenta características que lo posicionan como una alternativa rentable en aquellas zonas cuyas condiciones ambientales o de calidad de suelos no son aptas para el cultivo de caña de azúcar. Entre estas ventajas se encuentra su alta resistencia a la sequía y su adaptación a diversos tipos de suelo, como aquellos con altos contenidos de aluminio y manganeso, característicos de las sabanas tropicales, y que resultan poco aptos para otro tipo de cultivos. Por otra parte, la obtención a gran escala de etanol a partir de yuca permitiría la estabilización de los precios de etanol y azúcar obtenidos a partir de caña, los cuales son altamente interdependientes, y fluctúan de acuerdo a la demanda de etanol o azúcar en un momento dado. Así por ejemplo, en Tailandia se evaluó en términos energéticos la producción de bioetanol y se pudo obtener un valor de energía neta (NEV) de 8.80MJ/L, lo cual es aún más eficiente que la producción de energía obtenida en China a partir también de yuca, la cual fue de 7,4 MJ/L (Dai *et al.*, 2006) o que la de maíz en Estados Unidos (Lan *et al.*, 2008). El mejoramiento genético de plantas puede generar variedades con características adecuadas para que el proceso de producción de biocombustibles sea más eficiente. La ruta de biosíntesis de almidón y las enzimas involucradas en ésta han sido caracterizadas en diferentes plantas, a partir de lo cual ha sido posible generar variedades de yuca y maíz con calidades y cantidades de almidón adecuadas para la industria, así como la obtención de un incremento en la cantidad de azúcares libres (Raemakers *et al.*, 2005; Torney *et al.*, 2007). Destinar productos agrícolas a la producción de biocombustibles puede llegar a ser económicamente más rentable que utilizar estos mismos productos para la alimentación humana, debido a la alta demanda actual de biocombustibles y al plan de estímulos generados para esta industria, lo cual puede presentar ventajas a nivel de poder adquisitivo de los cultivadores, pero a la vez tiene la desventaja de incrementar problemas de disponibilidad de alimentos. A partir de lo anterior son necesarias políticas de control en la comercialización de las cosechas las cuales favorezcan la cobertura de la demanda alimenticia sobre la demanda de biocombustibles. En esta revisión se pretende dar una imagen del estado actual de la producción de biocombustibles y su trasfondo biológico, y se discuten las implicaciones ecológicas, junto con las posibilidades de obtención de plantas genéticamente modificadas para una producción más eficiente de materias primas destinadas a la producción de bioetanol.

LOS BIOCMBUSTIBLES EN EL CONTEXTO MUNDIAL

El hecho de que actualmente nos encontramos frente a un cambio en el modelo energético mundial es innegable, corresponde a una realidad y no solamente a un momento coyuntural. El pilar de este nuevo modelo energético lo constituyen los biocombustibles. Tomó cerca de 125 años consumir el primer trillón de barriles de petróleo. El siguiente trillón se gastará en los próximos 30 años (DOE, 2006). Existe una fuerte dependencia del combustible fósil para movilizar las industrias y el mercado mundial. Sin embargo, las reservas de petróleo escasean, siendo estimadas en 17×10^{10} toneladas a finales de 2007 (BP, 2008), y muchas de las que existen hoy en día se encuentran ubicadas en regiones de inestabilidad o conflicto político, como los países del medio oriente y de la antigua Unión Soviética. De alguna manera podemos decir que la era del combustible fósil como fuente exclusiva de energía “tiene sus días contados”.

La búsqueda de estrategias que permitan reducir la dependencia del combustible fósil ha llevado a desarrollar alternativas domésticas basadas en el uso de recursos renovables. Una de las prioridades para muchos países es desarrollar alternativas energéticas menos costosas, en cuanto a no tener que importarlas, o invertir grandes capitales en exploración, más limpias respecto a la disminución en la generación de contaminantes en el momento de su producción y utilización y viables respecto a su producción. Pruebas de la importancia de la búsqueda de fuentes alternativas de energía han sido las declaraciones de países como Estados Unidos, China, o la unión Europea de incrementar de manera considerable la utilización de biocombustibles (Bush, 2006; Gnansounou *et al.*, 2009). Los combustibles derivados de la biomasa vegetal ofrecen una excelente oportunidad de energía alternativa convencional que puede tener un gran impacto no sólo sobre el crecimiento económico de los países, y sobre la seguridad energética y ambiental sino también un fuerte impacto social dado por la creación de nuevos empleos en el sector rural e industrial, lo cual puede promover una mejor calidad de vida de la población. En los últimos años se ha evidenciado un progresivo aumento en los precios de los combustibles fósiles, debido principalmente a los problemas políticos e inestabilidad de los países en los cuales se concentran las principales reservas de petróleo, sumado a la creciente dificultad en el hallazgo de nuevas reservas petrolíferas en momentos en los cuales el consumo mundial creciente copa la producción mundial. El incremento en los precios de los combustibles frenará el desarrollo económico de los países y generará el empobrecimiento de los consumidores (Bacon, 2005; Mathews, 2007). Así por ejemplo, se ha estimado que un aumento sostenido de diez dólares en el precio del barril de petróleo produce un desbalance equivalente a una disminución de entre el 1,47 al 4% del producto interno bruto de los países más pobres y una disminución global del 0,5% en este indicador (Bacon, 2005). Se ha estimado que la industria del bioetanol podría crear miles de empleos y asegurar el crecimiento económico y energético nacional y global (Seixas, 2006). En Estados Unidos, por ejemplo, en el año de 2004 la industria del bioetanol permitió la creación de 147 mil empleos en todos los sectores de la economía y produjo más de dos billones de dólares de impuestos a los gobiernos locales, federales y estatales (RFA, 2005).

La producción mundial de etanol combustible ha presentado un incremento importante en los últimos años. Se estima que durante el período 2000-2005 la producción mundial pasó de $1,7 \times 10^{10}$ L a cerca de $4,0 \times 10^{10}$ L (DOE, 2006), teniendo en cuenta el estimado que un galón de etanol es equivalente a 0,7 galones de combustible fósil (Somerville, 2006), en estos cinco años se habría reemplazado el consumo de $1,61 \times 10^{10}$ galones de combustible fósil. Brasil fue uno de los primeros países en implementar la producción de bioetanol y es mundialmente reconocido como el país líder en producción de biocombustibles, particularmente etanol. En 1975 como consecuencia de la primera crisis petrolera, el Gobierno Federal estableció el programa "Proalcool", cuyo objetivo fue producir etanol a partir de la caña de azúcar y utilizarlo para la producción de etanol como combustible carburante. Actualmente Brasil se ha consolidado como el país que produce la bioenergía más barata del mundo, a un costo por galón de cerca de 0,25 dólares, menor al del etanol de maíz producido en Estados Unidos, y cerca de dos dólares más económico que el etanol obtenido a partir de celulosa en Estados Unidos o de remolacha azucarera en el caso Europeo (Goldemberg, 2007). Toda

la gasolina de Brasil está formada por una mezcla de 20-26% de etanol, la cual se conoce como "gasohol". Actualmente la producción de etanol en Brasil sobrepasa los $1,6 \times 10^{10}$ L y constituye el 14,8% de los combustibles empleados en el transporte (Goldemberg, 2007). Los primeros vehículos comerciales que funcionaron con etanol se introdujeron en 1979 y la proporción de la mezcla etanol-gasolina alcanzó en ese año 15 a 20%, para posteriormente incrementarse al 25% en el 2003. Desde el 2003, Brasil cuenta con vehículos "flex-fuel" los cuales pueden emplear etanol, gasolina o una mezcla de los dos, ofreciendo al consumidor la flexibilidad de decidir cuál combustible incorporar en su automóvil. La materia prima principal para la producción de bioetanol en Brasil la constituye la caña de azúcar. Se estima que Brasil en el 2004 produjo 350 millones de toneladas de caña, la agroindustria azucarera generó alrededor de 700.000 empleos directos y más de 3,5 millones de empleos indirectos (Seixas, 2006). Existe una gran controversia acerca del aumento en la tasa de deforestación de la selva amazónica debido al incremento de los cultivos de caña de azúcar, sin embargo, las nuevas plantaciones de caña se están realizando sobre terrenos de sabana previamente usados para pastoreo de ganado, y no sobre áreas selváticas (Goldemberg y Guardabassi, 2009).

Estados Unidos ha sido otro de los países que ha incursionado fuertemente en la producción de biocombustibles en los últimos años, a pesar de que no haya sido uno de los pioneros en este campo. Desde el año 2000, su gobierno ha instaurado políticas y leyes con el objetivo de aumentar la producción y empleo de biocombustibles. A partir de 1990 la industria del etanol ha sido la de mayor crecimiento en las zonas rurales de Estados Unidos. En el 2004 los biocombustibles en Estados Unidos representaban aproximadamente el 3% del consumo total de combustible para transporte (Farrell *et al.*, 2006). La capacidad de producción de etanol para combustible en el 2004 fue de 15.000 millones de litros y se establecieron 12 nuevas plantas de producción elevando su capacidad de producción a 16.200 millones de litros en el 2005. Sólo en el 2008 la producción de etanol en Estados Unidos ascendió a $3,4 \times 10^{10}$ L, producidos por 170 plantas (RFA, 2009). Esta cifra es equivalente a $2,38 \times 10^{10}$ L de combustible fósil. El 90% del etanol de Estados Unidos se obtiene del cultivo de maíz (Hill *et al.*, 2006). Sin embargo otras alternativas se están considerando, como el empleo de sorgo en grano, remolacha, celulosa y desechos sólidos municipales (Seixas, 2006).

MATERIAS PRIMAS EMPLEADAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

Los biocombustibles, básicamente bioetanol y biodiesel, son obtenidos a partir de material vegetal, particularmente productos ricos en sacarosa, almidón o celulosa para la obtención de bioetanol (Gray *et al.*, 2006) y productos ricos en aceites para el caso del biodiesel (Demirbas, 2007). Dentro de los productos ricos en sacarosa se encuentran caña de azúcar, melaza, sorgo dulce y remolacha, entre otros (Goldemberg, 2007), mientras que entre los cultivos con alto contenido de almidón para la producción de biocombustibles se encuentran los cereales, básicamente maíz, trigo y cebada o también diferentes cultivos con raíces o tubérculos almacenadores de almidón como papa o yuca (McLaren, 2005). Plantas con alto contenido de almidón son propicias para la producción de etanol pues este producto de almacenamiento de carbohidratos es más fácilmente fermentable que otro tipo de polímeros de glucosa como la celulosa. Por otra parte, cultivos como el de palma de aceite (*Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera*), cocotero

(*Cocos nucifera*), *Jatropha* sp. e higuierillo (*Ricinus comunis*) se caracterizan por su alto contenido de aceites transesterificables útiles para la obtención de biodiesel (Ma y Hanna, 1999). Recientemente se ha establecido el gran potencial para la obtención de bioetanol que pueden tener materiales vegetales ricos en celulosa tales como madera y residuos agrícolas (Herrera, 2006). Sin embargo, la tecnología para hacer eficiente la obtención de etanol a partir de celulosa se encuentra aún en fase de desarrollo (Ragauskas *et al.*, 2006).

El número diverso de fuentes para la obtención de biocombustibles hace que esta industria tenga cierta capacidad de elegir entre diferentes opciones de cultivo basada en las condiciones agronómicas de la zona a cultivar, así como en el comportamiento del mercado y en la efectividad para la obtención del producto final a partir del material no procesado. De esta manera en Estados Unidos se ha generalizado el uso del maíz como fuente de bioetanol a causa de la larga experiencia de los cultivadores de este producto, junto con el alto rendimiento de las variedades utilizadas y el gran desarrollo tecnológico en la extracción del bioetanol a partir del almidón del grano (Dien *et al.*, 2002). En Brasil la principal fuente de biocombustible es la caña de azúcar, ya que la productividad de esta planta, de metabolismo tipo C_4 , el cual es más eficiente respecto a la fijación de CO_2 en zonas tropicales es alta y, al igual que en el caso de Estados Unidos, existe una infraestructura de obtención de bioetanol bastante desarrollada (Parikka, 2004). En países asiáticos como Tailandia y China se empieza a generar una industria de producción de bioetanol a partir del cultivo de yuca, el cual tiene una larga tradición en estas zonas y que tiene a Tailandia como su mayor productor a nivel mundial (Nguyen *et al.*, 2007). Sin embargo, en países con una alta heterogeneidad edafoclimática existirán zonas no aptas para determinados cultivos pero adecuadas para el crecimiento y desarrollo de otros. En países como Colombia es posible la obtención de biocombustibles a partir de diferentes fuentes, lo que puede propiciar un clima saludable no sólo para los cultivos, sino para las industrias y mercados basados en cada uno de éstos.

VENTAJAS DE LA UTILIZACIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

El gran auge actual en el uso de biocombustibles como fuente energética se fundamenta en los beneficios de éstos a nivel ambiental y económico, global y regional. Desde el punto de vista ambiental, una de las ventajas del uso de los biocombustibles es la disminución del efecto invernadero ocasionado por las emisiones de CO_2 , ya que reduce las emisiones de monóxido de carbono (CO) e hidrocarburos totales de los gases de escape de los vehículos. Cuando se emplean combustibles fósiles, el carbón secuestrado por millones de años es liberado a la atmósfera donde éste se acumula, mientras que la transición hacia el uso de biocombustibles permitiría que la producción fotosintética de nueva biomasa incorporara un gran porcentaje del dióxido de carbono liberado cuando el bioetanol es consumido. Un análisis ha revelado que la emisión de CO_2 liberado por el bioetanol puede ser 85% menor que el producido por la combustión de la gasolina (Wang, 2005), aunque dichas estimaciones varían ampliamente dependiendo del cultivo, del tipo de combustible y de la tecnología de conversión utilizada (Farrell *et al.*, 2006). Esta variación se da principalmente por la inclusión o exclusión de diversos factores en la cadena productiva de biocombustibles, tales como biomasa desplazada, efectos en el suelo o utilización de fertilizantes y variables de medición (von Blottnitz y

Curran, 2007). La industria de los biocombustibles permitirá generar una gran cantidad de empleos nuevos que redundará en un fuerte impacto social. El desarrollo de la agricultura se beneficiará de la industria de la producción de biocombustibles y proveerá a los campesinos de una nueva fuente de ingresos y estabilidad laboral que ayudará a reducir los problemas de desempleo y hambre que se presenta en el sector rural de muchos países del mundo (Seixas, 2006). Esto es particularmente cierto para los países pobres ubicados en la zona tropical del planeta, donde las plantas tienden a crecer más rápidamente. Por último, para los países no productores de combustibles fósiles y para aquellos cuya producción es insuficiente para su consumo interno, la dependencia de dichos combustibles suele generar conflictos a nivel geopolítico con los países productores, por lo cual una disminución de dicha dependencia, mediada por un uso incrementado de biocombustibles, tendría la capacidad de producir una distensión en las relaciones entre productores y consumidores de derivados del petróleo y podría aliviar las finanzas de los países consumidores y productores de biocombustibles.

MECANISMO DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES

Para la obtención eficiente de biocombustibles, no sólo es necesario partir de cultivos con alto contenido de materia energéticamente viable, como azúcares, almidones o aceites. También se deben aplicar tratamientos físicos, químicos y enzimáticos destinados a la obtención del producto final, ya sea bioetanol o biodiesel. Para esto, existen actualmente diferentes métodos industriales orientados hacia la obtención más eficiente de biocombustibles, y el campo de investigación en el mejoramiento de estos procesos es uno de los más dinámicos en la cadena productiva de los biocombustibles (Ragauskas *et al.*, 2006). La estrategia corriente para la producción de biocombustibles a partir de la biomasa involucra tres pasos básicos: después de la adquisición de la biomasa, la biorefinería comienza con la reducción en el tamaño de la materia prima vegetal y el pretratamiento termodinámico para generar polímeros más accesibles a la ruptura enzimática para generar azúcares. Posteriormente se adicionan preparaciones especiales de enzimas que producen azúcares simples y finalmente estos azúcares son convertidos a etanol durante el proceso de fermentación llevado a cabo por bacterias o levaduras. La materia prima para la obtención de biocombustibles determina el tratamiento inicial a llevarse a cabo. En el caso de plantas con alto contenido de almidón, el cual es un polímero de azúcares, son necesarios tratamientos iniciales de licuefacción enzimática y sacarificación, lo que permiten la generación de azúcares libres (Schubert, 2006). Esto se logra al adicionar la enzima amilasa la cual tiene actividad óptima a pH 6. Dicho tratamiento tarda unos 90 minutos y se realiza a 95-105 °C. Los oligosacáridos así obtenidos deben sufrir otro tratamiento enzimático con glucoamilasa y pululanasa. Para esta reacción enzimática se requiere ajustar nuevamente el pH a 4,5 y descender la temperatura a 60-62 °C. La reacción tarda de 12 a 96 horas. Las moléculas de glucosa así obtenidas son entonces fermentadas a etanol por medio de levaduras (Shetty *et al.*, 2005; Fig. 1).

Una de las materias primas más empleadas para la obtención de bioetanol es la caña de azúcar. Dicha planta contiene una gran cantidad de sacarosa libre y es ampliamente cultivada en Brasil. Sin embargo, en otros países como Estados Unidos también se ha empleado con gran éxito maíz y en menor grado remolacha (*Beta vulgaris var. saccharifera*). Cabe anotar que la obtención de azúcares fermentables a partir de almidón, como en el

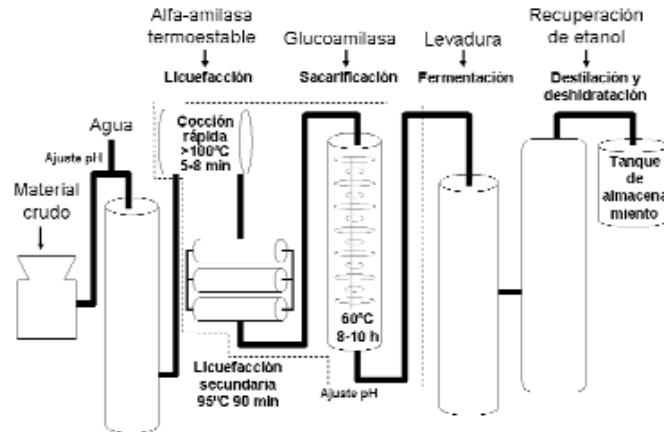


Figura 1. Esquema general de los pasos del proceso de obtención de etanol a partir de material vegetal (modificado de Schubert, 2006). Los procesos dentro del cuadro punteado son necesarios cuando la materia prima es almidón.

caso del maíz o la yuca, requiere de procesos enzimáticos para reducir la complejidad de éste polímero de glucosa, los cuales no son necesarios en el caso de la obtención de azúcares simples como con la caña de azúcar. Sin embargo, en términos de rendimientos en litro de alcohol por hectárea de producto se observa que mientras en caña de azúcar se obtienen 75 L de etanol a partir de una tonelada, en yuca se obtienen 200 L. En términos generales, el rendimiento en litros por hectárea por año empleando caña de azúcar es de $4.900 \text{ L ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, mientras que en yuca es de $6.000 \text{ L ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ demostrando el alto potencial de la yuca para producir alcohol carburante (Jansson *et al.*, 2009).

Dentro de las alternativas para producción de bioetanol, se encuentran el almidón acumulado en las raíces almacenadoras de las plantas de yuca (*Manihot esculenta*; Amutha y Gunasekaran, 2001) y la celulosa. La utilización de celulosa para bioetanol se encuentra aún en fase experimental, ya que es necesario optimizar el proceso de disminución de la complejidad molecular de ésta, de manera que sea apta para el proceso de fermentación, lo cual implica retos mayores que los del almidón o los azúcares libres, ya que es necesario desarrollar toda una línea de procesos fisicoquímicos y enzimáticos para tal fin (Hahn-Hagerdal *et al.*, 2006). Para este fin, institutos de investigación de punta como el Departamento de Energía de Estados Unidos (DOE, por sus siglas en inglés), se encuentran financiando tanto plantas de obtención de etanol a partir de celulosa (Service, 2007) como proyectos destinados a desarrollar estrategias de biotecnología e industriales con miras a generar rentabilidad financiera a este proceso de obtención de etanol (DOE, 2006).

COLOMBIA Y LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Colombia entró recientemente al negocio de los biocombustibles. Sin embargo, al ser éste un sector en crecimiento, aunque a gran velocidad en el mundo, Colombia llega a tiempo al tema. Las condiciones del país hacen que éste tenga un potencial importante para el desarrollo de la agroindustria de biocombustibles. Dada la vocación agrícola del país, el desarrollo de los biocombustibles puede permitir el desarrollo del campo colombiano y constituir un frente estratégico de negocios para los empresarios.

El desarrollo y producción de biocombustibles en Colombia ha avanzado gracias a una serie de estímulos legales tendientes a promover tanto la producción como el consumo de éstos. La Ley 693 del 2001 estableció que ... Las gasolinas que se utilicen en los centros urbanos de más de 500.000 habitantes, a más tardar en septiembre del año 2002, tendrán que contener compuestos oxigenados tales como alcoholes carburantes... . Se decretó además, que el uso de etanol carburante recibirá un tratamiento especial en las políticas sectoriales de autosuficiencia energética, de producción agropecuaria y de generación de empleo. La Ley 693 busca como objetivos principales: i) disminuir las emisiones de hidrocarburos y de monóxido de carbono a la atmósfera, causadas por los motores de combustión; ii) mejorar la sostenibilidad ambiental; iii) mantener y generar empleos en el sector agrícola e industrial; iv) desarrollar el sector agroindustrial y v) contribuir al propósito estratégico de autosuficiencia energética. Posteriormente se han desarrollado una serie de estímulos tributarios encaminados a incentivar el desarrollo y empleo de biocombustibles. Es así como se desarrolló la Ley 788 de 2002 (Reforma Tributaria) en donde se declara exento de IVA al alcohol carburante con destino a la mezcla con el combustible motor (Art. 31) y se exoneró del pago del impuesto global y de la sobretasa al porcentaje de alcohol carburante que se mezcle con la gasolina motor (Art. 88). De igual manera se han expedido varias resoluciones en 2003 (180687, 181088) en donde se establecen los criterios técnicos y ambientales y las políticas de precios de los biocombustibles. Recientemente el estado colombiano decretó la introducción progresiva en el mercado de vehículos con la capacidad de funcionar con diferentes mezclas de gasolina y etanol, llegando hasta un 85% de contenido de etanol (E85). Para el año 2012 todos los vehículos comercializados en el país deberán cumplir este requerimiento.

La producción de bioetanol en Colombia se ha centrado básicamente en el empleo de caña de azúcar como materia prima, aprovechando las ventajas que ésta ofrece y la tradición y desarrollo del sector cañero en Colombia. Actualmente en Colombia el requisito de incorporar un 10% de etanol en la gasolina sólo está vigente en Bogotá, en el Valle del Cauca y en el Eje Cafetero. Para cumplir con este requerimiento se estima que se necesitan 675.000 L de etanol diarios para suplir las necesidades de las siete ciudades principales de Colombia y 1,5 millones de litros diarios a nivel nacional (Fedebiocombustibles, 2008).

Actualmente existen cinco plantas principales en Colombia para la producción de etanol ubicadas en el Valle del río Cauca (Incauca, Providencia, Manuelita, Mayagüez y Risaralda), las cuales producen cerca de un millón de litros diarios de alcohol carburante, lo que puede equivaler a haber descubierto un campo petrolero con producción diaria de 16.500 barriles (Fedebiocombustibles, 2008). Existen sin embargo, otros proyectos que están en desarrollo o en estudio de factibilidad y que involucran no sólo la caña de azúcar como materia prima. En la región de la Hoya del río Suárez, Santander, existe un proyecto bien avanzado que se estima puede llegar a producir inicialmente 150 mil litros diarios de bioetanol a partir de caña panelera. En el Quindío se lleva a cabo un proyecto similar con los mismos valores esperados de producción y también a partir de caña. De manera similar, empresas privadas se encuentran desarrollando proyectos que buscan utilizar yuca como materia prima para producir bioetanol en los llanos orientales (ver más adelante). En Boyacá existe un proyecto que busca producir cerca de 300 mil litros por

día empleando remolacha azucarera como materia prima (Fedebiocombustibles, 2008). Estos hechos demuestran el gran dinamismo que se ha generado en Colombia alrededor de los biocombustibles, al igual que evidencian la posibilidad de utilizar diferentes fuentes para la obtención de bioetanol, lo cual a largo plazo generaría una estabilidad importante en el mercado y cierto grado de independencia, no sólo de los combustibles fósiles sino de los biocombustibles provenientes únicamente de caña de azúcar, que aunque en cierto grado presentan un proceso de obtención más eficiente, el área de cultivo no es suficiente para la demanda a cubrir.

VENTAJAS DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL EN COLOMBIA

Son varias las ventajas que traerá para el desarrollo del país la producción de biocombustibles. Dentro de estas se cuenta con la creación de cerca de 63 mil nuevos empleos, lo que implica cerca de USD\$7,1 millones al año (Fedebiocombustibles, 2008). Este incremento en las plazas de empleo puede a largo plazo ayudar a aliviar problemas sociales y de orden público en las zonas rurales del país. Igualmente el sector agrícola se beneficiará a través de la inversión en infraestructuras tales como vías, hospitales, escuelas, etc. La industria de biocombustibles permitiría por otra parte la reducción en las importaciones, lo que puede mejorar la balanza comercial. Se ha calculado que la cadena productiva de biocombustibles generará un incremento del 2,5% en el producto interno agrícola (Fedebiocombustibles, 2008). El comercio exterior se vería beneficiado por la exportación de 1,5 millones de barriles de gasolina que serían sustituidos por el bioetanol. En cuanto al medio ambiente, se estima que una reducción de la quema de hidrocarburos en un 20% mediada por el uso de biocombustibles puede contribuir en la reducción del 27% en emisiones de CO y de seis millones de toneladas anuales de CO₂, elementos responsables de la formación de *smog* en las ciudades y del efecto invernadero (Fedebiocombustibles, 2008). Por otra parte, tratados de cooperación comercial con otros países, estimulan la producción y comercialización de biocombustibles al liberar de aranceles la exportación de bioetanol y biodiesel, lo que abre las perspectivas de Colombia para entrar en el mercado internacional de producción de biocombustibles.

LA YUCA COMO ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

El cultivo de yuca. Como se ha venido mencionando, el cultivo de yuca es uno de los más promisorios para la obtención industrial de bioetanol en Colombia. La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es una dicotiledónea perteneciente a las Euphorbiaceas, con su centro de domesticación ubicado a lo largo del borde sur del río Amazonas (Olsen y Schaal, 1999). La yuca es considerada como un cultivo de subsistencia, debido a su alta capacidad de adaptación a suelos ácidos e infértiles, a su relativa resistencia a malezas y plagas y a su habilidad para resistir largos períodos de sequía. Crece en áreas en donde la precipitación anual es mayor de 500 mm y la temperatura es superior a 20 °C, sin embargo algunas variedades crecen a los 2.000 m de altura o áreas subtropicales, con temperatura promedio de 16 °C (Ekanayake *et al.*, 1997). La yuca ha sido tradicionalmente considerada como un alimento básico, con calidad nutricional moderada, en especial la raíz tuberosa resalta principalmente como fuente de almidón, pues cerca del 90% de su peso seco lo constituyen carbohidratos (El-Sharkawy, 2004; Ospina *et al.*, 2002).

Después del arroz, el trigo y el maíz, la yuca representa la fuente más importante de calorías para la población mundial (FAO, 1998), se cultiva en más de 90 países y constituye la base de la alimentación para más de 1.000 millones de personas, especialmente en los países tropicales de América Latina, Asia y África. En Colombia la yuca es la principal fuente de ingresos para un gran porcentaje de pequeños campesinos. La yuca es un alto productor de almidón con niveles que oscilan entre 73,7 y 84,9% de su peso seco total en raíces (Tonukari, 2004). El almidón de yuca presenta características interesantes en comparación con el almidón de otras especies vegetales como maíz, papa o arroz. Esto hace que su utilización sea apropiada para ciertas industrias. Las cantidades de proteínas y de materia grasa en el almidón de yuca son más bajas que las del almidón de maíz o arroz, lo que le da características especiales de sabor y solubilidad (Ihemere, 2003). Los gránulos del almidón de yuca son más pequeños que los del almidón de papa y son más resistentes a los procesos que implican altas temperaturas como la esterilización y fragmentación. El almidón de yuca presenta además mayor viscosidad después de calentamiento, lo que es de gran utilidad para la obtención de productos alimenticios y culinarios. El almidón de yuca posee una excelente claridad lo que lo hace ideal para el desarrollo de geles transparentes. De igual manera, su resistencia al congelamiento tiene aplicaciones importantes en otro tipo de industrias. El almidón de yuca es también utilizado en la fabricación de papel, como lubricante en la perforación de pozos petroleros, en la industria textil y en la producción de dextrinas para la elaboración de pegantes (Baguma, 2004). En la actualidad el almidón de yuca ha cobrado un renovado interés industrial, particularmente en el sector de biocombustibles, por cuanto a partir de la degradación del almidón y la fermentación de los azúcares que lo forman se puede producir bioetanol.

La yuca como alternativa para la producción de bioetanol. A partir del almidón presente en la yuca se puede producir alcohol carburante. El almidón líquido de yuca puede ser fermentado mediante la utilización de levaduras como *Endomycopsis fibuligera* en combinación con cultivos bacterianos de *Zymomonas mobilis* en dos a cuatro días (Amutha y Gunasekaran, 2001). Se estima que a través de este proceso se puede llegar a obtener hasta 280 L de etanol al 96%, a partir de una tonelada de yuca con un 30% de almidón (FAO, 2006). Las ventajas comparativas del empleo del almidón de yuca para la producción de bioetanol son diversas. La yuca tiene una alta tasa de asimilación de carbono fotosintético, particularmente inusual para plantas de metabolismo C₃, alcanzando valores de 43 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. Igualmente, posee una alta temperatura óptima para la fotosíntesis (45 °C). Se ha reportado que la yuca presenta una de las mayores tasas de asimilación de CO₂ a sacarosa dentro de los vegetales (Angelov *et al.*, 1993; Edwards *et al.*, 1990). En términos agronómicos, la yuca es altamente resistente a sequías, en donde con una precipitación mínima de 500 mm/año se logran obtener buenas producciones. El cultivo de yuca genera una alta producción en suelos degradados y se adapta a todos los tipos de suelos a excepción de los fangosos, al igual que tolera bien los altos niveles de aluminio y manganeso, que son propios de los suelos de la mayoría de las sabanas tropicales y que resultan tóxicos para la mayoría de las plantas. La yuca presenta además una alta flexibilidad en el momento de la plantación y cosecha (Ceballos, 2002). En cuanto a rendimientos de producción, existen datos

variables dependiendo de las variedades de yuca cultivadas y de las condiciones agroecológicas. En Nigeria se han reportado rendimientos de 10,67 ton/ha de raíces frescas mientras que en Brasil y Tailandia se han reportado rendimientos de 13,45 ton/ha y de 16,84 ton/ha respectivamente (Ospina *et al.*, 2002). En Colombia se han reportado producciones en cultivos comerciales de 15-20 ton/ha. Cabe anotar que los valores de producción a nivel experimental pueden llegar hasta 80 ton/ha, sin embargo esta alta productividad aún no ha podido ser trasladada a los campos de cultivo. En términos de rendimientos en litro de alcohol por hectárea de producto se observa que mientras en caña de azúcar se obtienen 75 L de etanol a partir de una tonelada, en yuca se obtienen 200 L. En términos generales, el rendimiento en litros por hectárea por año empleando caña de azúcar es de 4.900 L ha⁻¹ año⁻¹, mientras que en yuca es de 6.000 L ha⁻¹ año⁻¹ demostrando el alto potencial de la yuca para producir alcohol carburante (Jansson *et al.*, 2009). Otro aspecto importante de la utilización de la yuca para producir bioetanol es el impacto social que puede generar. Se ha estimado que mientras que en cultivos de maíz se genera un empleo por cada 2,43 ha, en yuca se genera el mismo empleo por cada 1,66 ha (Ministerio de Minas y Energía, 2007). Esto permite una mejora en las condiciones del sector rural en Colombia, incentivando el desarrollo agrícola e incluso impulsando las políticas de reemplazo de cultivos ilícitos.

El potencial del cultivo de yuca como fuente de biocombustibles se ve reflejado en los planes que diferentes países han planteado para su utilización. Este es el caso de China, Tailandia y Nigeria, los cuales han llevado a cabo diversos estudios de viabilidad de producción de etanol a partir de yuca, encontrando que su implementación tendría efectos favorables tanto a nivel de producción de energía, como de disminución en la emisión de CO₂ (Dai *et al.*, 2006; Nguyen *et al.*, 2007; Leng *et al.*, 2008; Nguyen y Gheewala, 2008)

BIOTECNOLOGÍA DE YUCA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

La producción de bioetanol a partir de raíces de yuca es una alternativa real. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, frente a la creciente demanda mundial y local de biocombustibles es necesario desarrollar estrategias que permitan suplir estas necesidades. En este sentido, existe un fuerte desafío del sector agrícola e industrial para incrementar la producción de biocombustibles. Para conseguir este objetivo se requiere de un gran desarrollo científico y agrícola acompañado de cerca por el sector industrial para incrementar la producción de las materias primas que abastezcan las plantas industriales, ya que se ha calculado que la producción de las plantas existentes equivale al 57% de la demanda local (Fedebiocombustibles, 2008).

A pesar de sus ventajas, la yuca no ocupa un puesto importante en la agricultura tropical. Esto se debe a varios factores como la falta de tecnologías específicas para yuca, la falta de cultivares desarrollados para la industria, la larga duración de cada ciclo de selección y baja tasa de reproducción, las políticas gubernamentales que se han centrado en la producción de cereales y caña de azúcar, el escaso desarrollo de mercados, el volumen de las raíces y su rápido deterioro fisiológico poscosecha. Sin embargo, muchos de estos problemas ya han sido superados o están en proceso de ser resueltos (Ceballos, 2002). La naturaleza heterocigótica de la yuca prolonga el mejoramiento convencional, por lo cual la transformación genética se está convirtiendo en una herra-

mienta clave para acelerar la introducción de características agronómicas de interés, como la resistencia a enfermedades y el mejoramiento de la calidad del almidón (Taylor *et al.*, 2004). Esfuerzos recientes se han encaminado a conocer más acerca de la estructura génica y organización del genoma de la yuca, los cuales muy seguramente redundarán en mejores estrategias para el desarrollo de este cultivo. Actualmente se cuenta con librerías BACs de algunos genotipos lo que permitirá la identificación y clonación de genes (Tomkins *et al.*, 2004). De igual manera se cuenta con una colección importante de ESTs (del inglés *Expressed Sequence Tags*), lo que ha permitido la construcción del primer microarreglo de yuca que puede ser utilizado para el estudio de la expresión de miles de genes de manera simultánea (Lopez *et al.*, 2005).

A través de herramientas biotecnológicas ya disponibles para yuca (Taylor *et al.*, 2004) se podrían desarrollar variedades con alto contenido de almidón, lo cual redundaría en la disminución del área de siembra para satisfacer las demandas de materia prima. Al mismo tiempo, la biotecnología permitiría obtener variedades que en lugar de almacenar almidón acumulen cantidades significativas de azúcares libres (i.e. sacarosa y glucosa), permitiendo eliminar etapas del proceso de transformación de almidón en bioetanol, lo que se traduciría en una disminución en los costos de producción (Schubert, 2006). Para este fin, es necesario conocer en detalle la ruta de biosíntesis de almidón, para identificar los genes clave sobre los cuales realizar modificaciones en busca de obtener plantas con alto contenido de almidón o azúcares libres.

Estructura del almidón. El almidón es un producto de reserva alimenticia predominante en las plantas. El almidón es sintetizado y almacenado en plastidios, ya sea de manera temporal en cloroplastos o a largo plazo en amiloplastos densamente ubicados en órganos de almacenamiento como raíces o semillas. Químicamente el almidón es un polisacárido que resulta de la polimerización de moléculas de glucosa (Ball y Morell, 2003). El almidón se obtiene exclusivamente de vegetales que lo sintetizan a partir de CO₂ que toman de la atmósfera y de agua que toman del suelo. Durante este proceso la energía solar se transforma y se almacena en forma de glucosa (Martin y Smith, 1995). El almidón está formado por dos tipos de polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina. En casos como el de los cereales, el almidón puede contener componentes menores tales como lípidos. La composición amilosa / amilopectina es el factor principal que le confiere las propiedades funcionales al almidón. Estos polímeros de glucosa se encuentran en proporciones diferentes dependiendo de la fuente de obtención del almidón y de diversas variables ambientales (Kossmann y Lloyd, 2000). La amilosa es producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos (1,4). El polímero resultante está formado por cadenas lineales largas de 200-2500 unidades. La amilosa es un α -D-(1,4)-glucano cuya unidad repetitiva es la α -maltosa. La amilosa tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal, en la que cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa. El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, y es por tanto lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. La mayoría de los almidones contienen alrededor de 25% de amilosa. La amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones adicionales que le dan una estructura molecular similar a la arquitectura de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa

(Fig. 2). La amilopectina constituye alrededor del 75% de los almidones más comunes. Algunos almidones están constituidos exclusivamente por amilopectina y son conocidos como céreos (Smith *et al.*, 1997). El almidón se presenta como un conjunto de gránulos o partículas, estos gránulos son relativamente densos e insolubles en agua fría, aunque pueden dar lugar a suspensiones cuando se dispersan en el agua (Smith *et al.*, 1997).

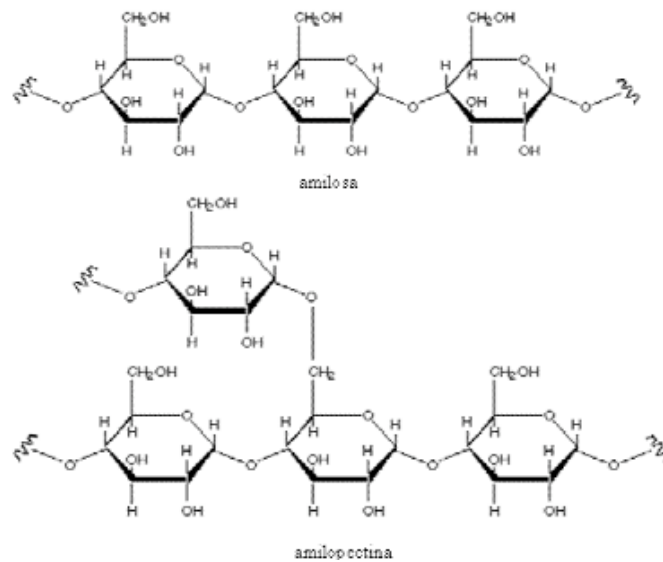


Figura 2. Estructura química de la amilosa y amilopectina.

La biosíntesis de almidón en plantas. La fuente principal para la biosíntesis de almidón es la sacarosa. La mayor parte de sacarosa citosólica es convertida a hexosas fosfatos, las cuales son transportadas al amiloplasto por un translocador cuya naturaleza química aún se discute y puede variar según la especie vegetal (Ball y Morell, 2003). La glucosa-6-fosfato así formada es convertida a glucosa-1-fosfato por la enzima fosfoglucomutasa. El paso crucial en la biosíntesis de almidón en el amiloplasto es llevado a cabo por ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa), que cataliza la síntesis de ADP glucosa a partir de glucosa-1-fosfato usando ATP y liberando pirofosfato como subproducto. La ADP-glucosa es transferida a los extremos no reductores de moléculas de almidón presentes en el plastidio mediante las enzimas almidón sintasas, principalmente GBSS (del inglés *Granule Bound Starch Synthase*), extendiendo de manera lineal el polímero. Por otra parte, las ramificaciones del almidón son producidas por la enzima ramificante del almidón, SBE (del inglés *Starch Branching Enzyme*) y por las sintasas solubles, SSS (del inglés *Soluble Starch Synthase*; Fig. 3; Ball y Morell, 2003).

La relativa simplicidad de la ruta bioquímica determinada por los pocos pasos enzimáticos que ella involucra, contrasta con la complejidad de los genes que codifican para las enzimas implicadas. La AGPasa es una enzima heterotetramérica compuesta por dos unidades pequeñas y dos grandes. La subunidad pequeña posee la actividad catalítica,

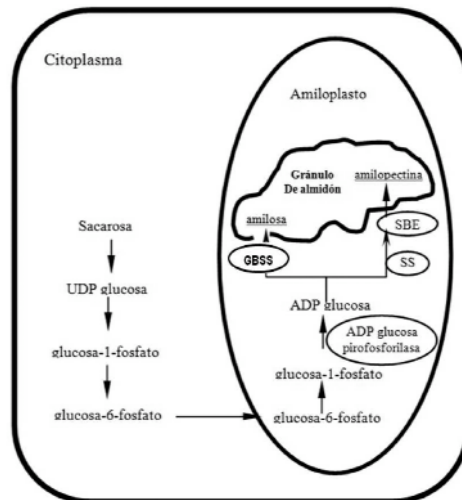


Figura 3. Esquema de la ruta de biosíntesis de almidón en una célula vegetal. Encerradas en un círculo se muestran las principales enzimas de la biosíntesis de almidón. SS: *Starch Synthase*. GBSS: *Granule-Bound Starch Synthase*. SBE: *Starch Branching Enzyme*.

mientras que la grande está encargada de la regulación de la actividad de la enzima. Dicha regulación está determinada por el estado fisiológico de la célula. En presencia de altas concentraciones de 3-fosfoglicerato, un producto directo de la fotosíntesis, la actividad de la AGPasa es inducida. Cuando el fosfato inorgánico, subproducto de la síntesis de almidón y molécula necesaria para ser intercambiada por glucosa-6-fosfato del citosol es el que predomina, la actividad de esta enzima es reprimida (Kossmann y Lloyd, 2000). Se han encontrado isoformas de la AGPasa diferencialmente distribuidas en el citosol o en plastidios, o a nivel de hojas, raíces o tallos (Ball y Morell, 2003). Para las almidón sintasas existen por lo menos cuatro isoenzimas, las cuales pueden ser subdivididas en dos grupos según su localización. Las enzimas que están unidas fuertemente al gránulo de almidón son denominadas GBSS, mientras que las SSS son solubles y se encuentran en el estroma de los amiloplastos o en los cloroplastos. La actividad de cada una de estas isoenzimas es complementaria más no sobrelapante. Principalmente la GBSS es responsable de la síntesis de amilosa, mientras que la SSS sintetiza amilopectina. En la reacción de ramificación están involucradas dos tipos de enzimas ramificantes, diferenciándose en que las del tipo I tienen una actividad moderada de ramificación, mientras las del tipo II producen amilopectina altamente ramificada (Ball y Morell, 2003).

Biosíntesis de almidón y modificación de la ruta en yuca: sobreexpresión y silenciamiento de genes usando transformación genética. Varios de los genes que codifican para las enzimas implicadas en la biosíntesis de almidón han sido aislados y caracterizados en diferentes especies vegetales (Ball y Morell, 2003). En yuca, los genes que codifican para la subunidad mayor y menor de la AGPasa han sido clonados y denominados *AGPasa S* y *AGPasa B* respectivamente (Munyikwa *et al.*, 1997). Los dos genes mostraron ser expresados en todos los tejidos, pero el gen de la *AGPasa B* exhibió una mayor expresión que el de *AGPasa S* en hojas y raíces (Munyikwa *et al.*, 1997). A través del

rastreo o tamizaje de librerías de ADNc (ADN sintetizado a partir de ARN mensajero o ARNm) fue posible identificar los genes que codifican para las enzimas GBSSI y GBSSII. GBSSI mostró también un mayor nivel de expresión en las raíces (Salehuzzaman *et al.*, 1992; Salehuzzaman *et al.*, 1993), mientras que GBSSII fue altamente expresado en hojas, sugiriendo que se trata de una isoforma específica para este órgano, o que GBSSII es expresado en estadíos tempranos durante el desarrollo (Munyikwa *et al.*, 1997). Más recientemente se reportó la clonación de los genes que codifican para las enzimas de ramificación SBEI y SBEII (Baguma *et al.*, 2003). Los estudios de actividad transcripcional mostraron un fuerte incremento de la actividad de estos genes en las raíces a medida que éstas crecían, mientras que la expresión de los genes no cambió o incluso disminuyó en otros tejidos (Baguma *et al.*, 2003).

La identificación de los genes de la ruta de síntesis de almidón en yuca permite modificar el contenido y tipo de almidón en la raíz. La expresión de los genes puede ser incrementada o reprimida, según los criterios del investigador y las propiedades del almidón deseado. La sobreexpresión de los genes puede llevarse a cabo empleando promotores que permiten una alta actividad transcripcional en el órgano de interés. Por el contrario, la represión de la expresión de un gen puede llevarse a cabo a través de las técnicas de silenciamiento como el empleo de ARN antisentido o de interferencia del ARN (RNAi; Wesley *et al.*, 2001).

La modificación de la ruta de biosíntesis de almidón, ya sea por introducción de nuevos genes, sobreexpresión o silenciamiento de genes endógenos, ya se ha llevado a cabo en yuca o en papa empleando los genes identificados de yuca. Así por ejemplo, la inhibición del gen *AGPasa* en papa, llevada a cabo empleando el gen *AGPasa B* antisentido de yuca, produjo plantas transgénicas de papa con niveles de expresión del ARNm del gen endógeno de papa mucho más bajos; las plantas produjeron más tubérculos y presentaron una reducción importante en el contenido de almidón, pero los niveles de azúcares solubles (sacarosa, glucosa y fructosa) fueron hasta cinco veces mayores que los de las plantas control (Munyikwa *et al.*, 2001). Con el objetivo de obtener plantas de yuca con alto contenido de almidón, se produjeron plantas transgénicas con una alta actividad de la *AGPasa*. Para ello se introdujo el gen *glgC* que codifica para la *AGPasa* de *E. coli* (Ihemere *et al.*, 2006). La ventaja del uso de este gen es que la actividad *AGPasa* está determinada por un solo gen; en plantas dicha actividad depende de dos subunidades proteicas, codificadas por genes diferentes. Además, la actividad de la enzima es mucho mayor que la de cualquier especie vegetal. El gen bacteriano fue modificado para evitar la inhibición alósterica por la fructosa-1,6 bifosfato. Las plantas transgénicas de yuca así obtenidas presentaron un incremento de hasta el 70% en la actividad *AGPasa* con relación a las plantas no modificadas. Además tuvieron mayor peso fresco de raíces y mayor número de raíces tuberosas por planta. Los datos obtenidos sugirieron que el incremento en el contenido de almidón de las plantas transgénicas no era atribuible al mayor contenido de almidón por célula sino a un incremento en el número y tamaño de raíces (Ihemere *et al.*, 2006).

La inhibición del gen GBSS empleando el antisentido del gen de yuca permitió obtener un almidón libre de amilosa en papa (Salehuzzaman *et al.*, 1993) y en yuca, lo que incrementó la claridad y estabilidad de los geles hechos a partir de este almidón sin necesidad de tratamientos químicos (Raemakers *et al.*, 2005).

Estos estudios han demostrado que es posible mediante manipulación genética obtener almidones de yuca modificados sin necesidad de tratamientos químicos. Sin embargo, estos estudios se han realizado fuera del país, en algunos casos por industrias privadas, se han hecho en papa o en variedades de yuca no adaptadas a las condiciones agroecológicas del país o de baja producción. Por esta razón, se hace necesario realizar trabajos de mejoramiento genético de yuca en el ámbito nacional, que utilicen material vegetal adaptado a las diferentes condiciones agronómicas de Colombia, y que permita el desarrollo de todos los integrantes de la cadena productiva del cultivo de yuca con fines de obtención de biocombustibles, idealmente sin afectar la producción para la demanda alimenticia.

Biocombustibles y alimentación. Los biocombustibles pueden ser obtenidos a partir de una gran variedad de cultivos, por lo cual no es de extrañar que dentro de estos se encuentren cultivos que también son utilizados como fuente de alimento tanto para los seres humanos como para los animales domésticos sobre los cuales se fundamenta la obtención de proteína y/o energía para gran parte de la población. Se ha planteado que el hecho de que los cultivadores tengan la posibilidad de obtener mayores ganancias por su cosecha cuando la destinan a la producción de biocombustibles en lugar de que ésta sea utilizada como fuente alimenticia, puede generar un aumento en el costo de los alimentos, lo que también aumentaría el nivel de desnutrición en la población de bajos recursos. Sin embargo, si se tiene en cuenta que algunos de los proyectos que se están llevando a cabo para la obtención de biocombustibles se han planteado sobre especies que no comprometen la seguridad alimentaria, o que si lo hacen, como el caso de la yuca, utilizarían zonas de cultivo nuevas en las que no se estará compitiendo con la producción actual de alimento, el panorama se hace más claro. Incluso, es evidente que las fluctuaciones en los precios de la gasolina tienen un fuerte impacto en todos los productos de la canasta familiar, impacto que se podría ver disminuido si se tuviera en los biocombustibles una opción de obtención de energía, haciendo así de los biocombustibles un factor de economía alimenticia más que de competencia por recursos alimenticios.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los seres humanos han necesitado de fuentes de energía desde el inicio de su historia. Esta necesidad ha sido satisfecha a partir de diferentes materiales a lo largo del tiempo, pasando por la combustión de madera y carbón al aprovechamiento de los combustibles fósiles y fuentes alternativas como la energía nuclear, térmica y eólica entre otras. La obtención de energía a partir de biomasa vegetal es una opción más en el camino hacia la generación de un modelo energético que tenga una producción neta favorable y que no genere productos secundarios altamente contaminantes del medio ambiente. El hecho de la competencia entre alimento y combustible es un tema que se debe manejar de la mejor forma posible, teniendo en cuenta la posibilidad que tienen los biocombustibles de generar un balance económico positivo en regiones de escasos recursos, lo cual permitiría una mejor provisión alimenticia. Sin importar de qué cultivo se parta para la producción de biocombustibles, se generarán zonas agrícolas que promoverán el desarrollo económico nacional, pero que a la vez deben ser cuidadosamente planeadas para no alterar las zonas naturales nacionales ni generar amplios terrenos con cultivos que

degraden de manera importante los suelos. Para sobrepasar estos inconvenientes es necesaria una fuerte colaboración de los sectores investigativos e industriales con miras a lograr cultivos productivos y con pocos requerimientos agronómicos. Para conseguir los escenarios positivos estimados del uso de biocombustibles, es necesaria una investigación cuidadosa a todos los niveles de producción, así como a nivel ambiental, ecológico y agrícola, acompañado de políticas adecuadas de comercialización (Tilman *et al.*, 2009). La investigación básica ha permitido grandes avances en el entendimiento del metabolismo energético de las plantas, los cuales empiezan a ser utilizados para el beneficio humano, es así como la implementación de herramientas biotecnológicas orientada hacia la obtención de variedades vegetales con características agronómicas de interés para la producción de biocombustibles, tales como un alto contenido de azúcares libres, almidones fácilmente degradables o complejos celulósicos de fácil digestión enzimática empieza a jugar un papel fundamental en la dinámica tanto económica como social de aquellos países tropicales que poseen una amplia tradición agrícola. La obtención de etanol a partir de plantas almacenadoras de almidón es uno de los principales negocios en el marco de la obtención de biocombustibles actualmente, sin embargo, la industria del biodiesel y más recientemente de la obtención de combustibles a partir de celulosa, hacen de esta actividad una de las de mayor crecimiento tanto a nivel nacional como mundial. En este contexto, el cultivo de yuca orientado hacia la obtención de bioetanol es una alternativa real y promisoría. La capacidad de la yuca de adaptarse a suelos pobres, sus altos valores de productividad y bajos de requerimientos de riego y fertilización de suelos hacen de este cultivo un recurso natural que puede llegar a estar a la par con el de caña e incluso sobrepasarlo cuando se materialicen las investigaciones orientadas a la generación de variedades con contenidos importantes de azúcares libres y bajas pérdidas postcosecha, las cuales permitirán abastecer el mercado de bioetanol a nivel nacional y además generar excedentes de producción para exportación, teniendo siempre en cuenta la prioridad de cubrir la demanda alimenticia en primer lugar.

Aunque los biocombustibles son una buena opción en la búsqueda de fuentes alternas de energía, están lejos de ser la respuesta final al problema energético global. Sin embargo, así como el paso del uso de la leña al de la máquina de vapor, el paso de combustibles fósiles a biocombustibles es un avance necesario, que impulsará no solo la economía de aquellos países agrícolas, sino también la investigación biológica de aquellos organismos potencialmente útiles (Galperin, 2008), de los que de otra forma difícilmente la comunidad científica podría tener información de tipo genómico o proteómico para ser aplicada a otros campos de la investigación, como la obtención de una mayor productividad alimenticia. Esta obtención de información es especialmente relevante en el caso de la yuca, ya que aunque se conocen en cierto grado de detalle los principales componentes genéticos implicados en la biosíntesis de almidón, es necesario profundizar en aspectos como la expresión diferencial de genes implicados en la síntesis de almidón en diferentes tejidos, así como los posibles complejos proteicos que puedan estar implicados en los diferentes pasos de la ruta metabólica. La generación de variedades modificadas de yuca para producción de biocombustibles, junto con las respectivas pruebas de campo en las diferentes zonas de cultivo y el fortalecimiento de la cadena productiva del cultivo, definitivamente nos permitirán posicionar el cultivo de yuca como una fuente de energía eficiente para cubrir la cada vez mayor demanda de combustibles.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia y al CIAT: Centro internacional de Agricultura Tropical. Esta revisión se realiza en el marco del proyecto de investigación “Plantas transgénicas de yuca modificadas para la biosíntesis de almidón” financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

- AMUTHA R, GUNASEKARAN P. Production of ethanol from liquefied cassava starch using co-immobilized cells of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces diastaticus*. *J Biosci Bioeng.* 2001;92:560-564.
- ANGELOV MN, SUN J, BYRD GT, BROWN RH, BLACK CC. Novel characteristics of Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, a reputed C₃-C₄ intermediate photosynthesis species. *Photosynth Res.* 1993;38:61-72.
- BACON R. The Impact of Higher Oil Prices on Low Income Countries and on the Poor. [Reporte] The World Bank; 2005.
- BAGUMA Y. Regulation of starch synthesis in cassava [Tesis Doctoral] Uppsala: Dept. of Plant Biology and Forest Genetics, Swedish Univ. of Agricultural Sciences; 2004.
- BAGUMA Y, SUN C, AHLANDSBERG S, MUTISYA J, PALMQVIST S, *et al.* Expression patterns of the gene encoding starch branching enzyme II in the storage roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Sci.* 2003;164:833-839.
- BALAT M, BALAT H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Appl Energy.* 2009;86:2273-2282
- BALL SG, MORELL MK. From bacterial glycogen to starch: understanding the biogenesis of the plant starch granule. *Annu Rev Plant Biol.* 2003;54:207-233.
- BP British Petroleum Company. BP Statistical Review of World Energy [Reporte]. London; 2008.
- BUSH, G. State of the union address. 2006. Disponible en URL: <http://stateoftheunionaddress.org/2006-george-w-bush>
- CEBALLOS H. La yuca en Colombia y el mundo: nuevas perspectivas para un cultivo milenario. En: Ospina PB, Ceballos H, Alvarez E, Belloti AC, Calvert LA, Arias VB *et al.*, editores. La yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Cali: CIAT; 2002.
- DAI D, HU Z, PU G, LI H, WANG C. Energy efficiency and potentials of cassava fuel ethanol in Guangxi region of China. *Energy Convers. Manage.* 2006;47:1686-1699
- DEMIRBAS A. Progress and recent trends in biofuels. *Prog Energy Combust Sci.* 2007;33:1-18.
- DIEN BS, BOTHAST RJ, NICHOLS NN, COTTA M. The U. S. corn ethanol industry: an overview of current technology and future prospects. *Int. Sugar J.* 2002;103:204-208.
- DOE. Breaking the Biological Barriers to Cellulosic Ethanol: A Joint Research Agenda, [Reporte] 2006. DOE/SC-0095.
- EDWARDS GE, SHETA E, MOORE B, DAI Z, FRANCESCHI VR, *et al.* Photosynthetic Characteristics of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz), a C₃ Species with Chlorenchymatous Bundle Sheath Cells. *Plant Cell Physiol.* 1990;31:1199.

EKANAYAKE J, OSIURU D, PORTO M. Morphology of cassava. IITA Research Guide; 1997.

EL-SHARKAWY MA. Cassava Biology and Physiology. *Plant Mol Biol.* 2004;56:481-501.

FAO. Agricultural commodity Projections. [Reporte] FAO. Rome, Italy. 1998.

FAO. Enfoques. El mercado de almidón añade valor a la yuca. Disponible en: URL: <http://www.fao.org/AG/esp/revista/0610sp1.htm> 2006.

FARRELL AE. Ethanol can contribute to energy and environmental goals. *Science.* 2006;312:1748-1748.

FEDEBIOCOMBUSTIBLES. Federación Nacional de Biocombustibles [Internet]. Disponible en <http://www.fedebiocombustibles.com/index.php>. Consultado enero 2008.

GALPERIN MY. The quest for biofuels fuels genome sequencing. *Environ Microbiol.* 2008;10(10):2471-2475.

GNANSOUNOU E, DAURIAT A, VILLEGAS J, PANICHELLI L. Life cycle assessment of biofuels: Energy and greenhouse gas balances. *Bioresour Technol.* 2009;100:4919-4930.

GOLDEMBERG J. Ethanol for a sustainable energy future. *Science.* 2007; 315:808-810.

GOLDEMBERG J, GUARDABASSI P. Are biofuels a feasible option? *Energy Policy.* 2009;37:10-14.

GRAY KA, ZHAO L, EMPTAGE M. Bioethanol. *Curr Opin Chem Biol.* 2006; 10:141-146.

HAHN-HAGERDAL B, GALBE M, GORWA-GRAUSLUND MF, LIDEN G, ZACCHI G. Bio-ethanol—the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends Biotechnol.* 2006;24:549-556.

HERRERA S. Bonkers about biofuels. *Nat Biotechnol.* 2006;24:755-760.

HILL J, NELSON E, TILMAN D, POLASKY S, TIFFANY D. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:11206-11210.

IHEMERE U, ARIAS-GARZON D, LAWRENCE S, SAYRE R. Genetic modification of cassava for enhanced starch production. *Plant Biotechnol J.* 2006;4:453-465.

IHEMERE U. Somatic Embryogenesis and Transformation of Cassava for Enhanced Starch Production. [Tesis de Doctorado] Columbus: Department of Horticulture and Crop Science, Ohio State University; 2003.

JANSSON C, WESTERBERGH A, ZHANG J, HU X, SUN C. Cassava, a potential biofuel crop in (the) People's Republic of China. *Appl Energy.* 2009;86:S95-S99.

KOSSMANN J, LLOYD J. Understanding and influencing starch biochemistry. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2000;35:141-196.

LAN T, NGUYEN T, GHEEWALA S. Fossil energy, environmental and cost performance of ethanol in Thailand. *J Clean Prod.* 2008;16:1814-1821

LENG R, WANG C, ZHANG C, DAI D, PU G. Life cycle inventory and energy analysis of cassava-based Fuel ethanol in China. *J Clean Prod.* 2008;16: 374-384.

LOPEZ C, SOTO M, RESTREPO S, PIEGU B, COOKE R, *et al.* Gene expression profile in response to *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* infection in cassava using a cDNA microarray. *Plant Mol Biol.* 2005;57:393-410.

-
- MA F, HANNA MA. Biodiesel production: a review. *Bioresour Technol.* 1999;70:1-15.
- MARTIN C, SMITH AM. Starch biosynthesis. *Plant Cell.* 1995;7:971-985.
- MATHEWS JA. Biofuels: What a Biopact between North and South could achieve. *Energy Policy.* 2007;35:3550-3570.
- MCLAREN JS. Crop biotechnology provides an opportunity to develop a sustainable future. *Trends Biotechnol.* 2005;23:339-342.
- MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA. El Programa de Biocombustibles en Colombia. [Internet] Disponible en <http://www.biocombustiblescolombia.com/2007/files/memorias/MinMinas.pdf> Consultado marzo 2010.
- MUNYIKWA T, KREUZE J, FREGENE M, SUURS L, JACOBSEN E, VISSER R. Isolation and characterisation of cDNAs encoding the large and small subunits of ADP-glucose pyrophosphorylase from cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Euphytica.* 2001;120:71-83.
- MUNYIKWA T, LANGEVELD S, SALEHUZZAMAN S, JACOBSEN E, VISSER RGF. Cassava starch biosynthesis: new avenues for modifying starch quantity and quality. *Euphytica.* 1997;96:65-75.
- NGUYEN TL, GHEEWALA SH, GARIVAIT S. Full chain energy analysis of fuel ethanol from cassava in Thailand. *Environ Sci Technol.* 2007;41:4135-4142.
- NGUYEN TL, GHEEWALA SH. Fossil energy, environmental and cost performance of ethanol in Thailand. *J Clean Prod.* 2008;16:1814-1821.
- OLSEN KM, SCHAAL BA. Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:5586-5591.
- OSPINA PB, CEBALLOS H, ALVAREZ E, BELLOTTI AC, CALVERT LA, *et al.* La yuca en el Tercer Milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. CIAT: Cali 2002.
- PARIKKA M. Global biomass fuel resources. *Biomass Bioenerg.* 2004;27:613-620.
- RAEMAKERS K, SCHREUDER M, SUURS L, FURRER-VERHORST H, VINCKEN J-P, *et al.* Improved Cassava Starch by Antisense Inhibition of Granule-bound Starch Synthase I. *Mol Breed.* 2005;16:163-172.
- RAGAUSKAS AJ, WILLIAMS CK, DAVISON BH, BRITOVSEK G, CAIRNEY J, *et al.* The path forward for biofuels and biomaterials. *Science.* 2006;311:484-489.
- RFA. Homegrown for the Homeland: Ethanol Industry Outlook 2005. [Reporte] Renewable Fuels Association; 2005
- RFA. The Industry Statistics [Internet]. Disponible en: URL:<http://www.ethanolrfa.org/industry/statistics/>. Consultado en 2009.
- SALEHUZZAMAN S, JACOBSEN E, VISSER RGF. Cloning, partial sequencing and expression of a cDNA coding for branching enzyme in cassava. *Plant Mol Biol.* 1992;20:809-819.
- SALEHUZZAMAN S, JACOBSEN E, VISSER RGF. Isolation and characterization of a cDNA encoding granule-bound starch synthase in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its antisense expression in potato. *Plant Mol Biol.* 1993;23:947-962.
- SCHUBERT C. Can biofuels finally take center stage? *Nat Biotechnol.* 2006;24:777-784.
- SEIXAS M. Estrategias para construir una plataforma de cooperación horizontal sobre agroenergía y biocombustibles. [Reporte]. IICA 2006.

SERVICE RF. Cellulosic ethanol. Biofuel researchers prepare to reap a new harvest. *Science*. 2007;315:1488-1491.

SHETTY JK, LANTERO OJ, DUNN-COLEMAN N. Technological advances in ethanol production. *Int Sugar J*. 2005;107:605-606,608-610.

SMITH AM, DENYER K, MARTIN C. The Synthesis of the Starch Granule. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1997;48:67-87.

SOMERVILLE C. The billion-ton biofuels vision. *Science*. 2006;312:1277.

SOMERVILLE C. Biofuels. *Curr Biol*. 2007;17:R115-119.

TAYLOR N, CHAVARRIAGA P, RAEMAKERS K, SIRITUNGA D, ZHANG P. Development and application of transgenic technologies in cassava. *Plant Mol Biol*. 2004;56:671-688.

TILMAN D, SOCOLOW R, FOLEY JA, HILL J, LARSON E, *et al*. Beneficial Biofuels—The Food, Energy, and Environment Trilemma. *Science*. 2009;325:270-271.

TOMKINS J, FREGENE M, MAIN D, KIM H, WING R, TOHME J. Bacterial artificial chromosome (BAC) library resource for positional cloning of pest and disease resistance genes in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Mol Biol*. 2004;56:555-561.

TONUKARI NJ. Cassava and the future of starch. *Electron. J Biotechnol*. 2004;7(1):5-8.

TORNEY F, MOELLER L, SCARPA A, WANG K. Genetic engineering approaches to improve bioethanol production from maize. *Curr Opin Biotechnol*. 2007;18:193-199.

VON BLOTTNITZ H, CURRAN MA. A review of assessments conducted on bioethanol as a transportation fuel from a net energy, greenhouse gas, and environmental life cycle perspective. *J Clean Prod*. 2007;15:607-619.

WANG M. Energy and Greenhouse Gas Emissions Impacts of Fuel Ethanol. [Reporte]. NGCA; 2005.

WESLEY SV, HELLIWELL CA, SMITH NA, WANG MB, ROUSE DT, *et al*. Construct design for efficient, effective and high-throughput gene silencing in plants. *Plant J*. 2001;27:581-590.